

	Inventaris Wob-verzoek W17-17								
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	Documenten 20172744	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Aanvraagformulier				x		x		
2	Projectvoorstel				x	x		x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven oud				x	x		x	
5	DEC-advies				x		x		
6	Ontvangstbevestiging				x		x		
7	Verzoek en reactie aanvulling				x		x		
8	Niet-technische samenvatting nieuw	x							
9	Bijlage beschrijving dierproeven nieuw				x	x		x	
10	Adviesnota CCD		x						x
11	Beschikking en vergunning				x		x		

2744

1.

Centrale Commissie Dierproeven



27 JUL 2017

Aanvraag

Projectvergunning Dierproeven

Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 11500 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen																
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>UMC Utrecht</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td></td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>30244197</td></tr><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht</td></tr><tr><td>Postbus</td><td>12007</td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>3501AA Utrecht</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL27INGB0000425267</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>Universiteit Utrecht</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde		KvK-nummer	30244197	Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht	Postbus	12007	Postcode en plaats	3501AA Utrecht	IBAN	NL27INGB0000425267	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht
Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht																	
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde																		
KvK-nummer	30244197																	
Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht																	
Postbus	12007																	
Postcode en plaats	3501AA Utrecht																	
IBAN	NL27INGB0000425267																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht																	
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>																	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td></td><td>☒ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>Associate Professor</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>Experimental Cardiothoracic and Vascular Surgery</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>+31-887558662</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td></td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters		☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	Associate Professor		Afdeling	Experimental Cardiothoracic and Vascular Surgery		Telefoonnummer	+31-887558662		E-mailadres			
(Titel) Naam en voorletters		☒ Dhr. ☐ Mw.																
Functie	Associate Professor																	
Afdeling	Experimental Cardiothoracic and Vascular Surgery																	
Telefoonnummer	+31-887558662																	
E-mailadres																		
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td></td><td>☐ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td></td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td></td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☐ Mw.	Functie			Afdeling			Telefoonnummer			E-mailadres			
(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☐ Mw.																
Functie																		
Afdeling																		
Telefoonnummer																		
E-mailadres																		

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters ☐ Dhr. ☐ Mw.
- Functie
- Afdeling
- Telefoonnummer
- E-mailadres
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- ☐ Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- ☒ Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- ☒ Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- ☐ Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- ☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- ☐ Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- ☐ Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 1 - 9 - 2017
- Einddatum 1 - 9 - 2022
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Evaluatie van een bioafbreekbare graft voor bypass operaties
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC DEC Utrecht
- Postadres Postbus 85500 3508 GA Utrecht
- E-mailadres dec-utrecht@umcutrecht.nl

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1035.- Lege
☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
☐ Via een eenmalige incasso
☒ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- ☒ Projectvoorstel
- ☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ☐ Melding Machtiging
- ☐

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening

25-7-2017



Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed.
- For more information on the project proposal, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 11500
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. UMC Utrecht
- 1.3 Provide the title of the project. Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- ☐ Basic research
- ☒ Translational or applied research
- ☐ Regulatory use or routine production
- ☐ Research into environmental protection in the interest of human or
- ☐ Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- ☐ Higher education or training
- ☐ Forensic enquiries
- ☐ Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedures, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which uses.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

This study investigates the biocompatibility of a novel vascular graft made of a bioabsorbable synthetic material to be used in patients who undergo bypass surgery. A common cardiovascular disease is coronary artery disease (CAD). It is considered a major public health problem and leads to high numbers of morbidity and mortality [1,2]. CAD becomes more prevalent with age, as well as with an unhealthy

diet, overweight, and smoking [1]. The first line of treatment is catheter based minimally invasive angioplasty (re-canalization of the narrowed coronary artery with a distending balloon with subsequent placement of a stent in the opened blood vessel) However, when the treated segments of coronary arteries become stenotic again when atherosclerotic disease progresses, or in case multiple severely stenosed coronary arteries are present at first angiographic investigation, a coronary artery bypass graft (CABG) surgery is indicated. The majority of patients need more than 1 bypass as they suffer from several blockages of the coronary arteries, and therefore frequently need triple or quadruple bypass surgeries. Consequently, it increases the needed number of conduits to be harvested. In traditional CABG surgery, autologous vessels are used as the conduit around the blocked coronary artery. Examples of commonly used conduits are the internal mammary artery (IMA, taken from the inside of the chest), the radial artery (RA, taken from lower arm) and the saphenous vein graft (SVG, taken from the leg).

The main limitation in patients that need triple or quadruple bypass surgeries is the availability of sufficient length of autologous vessels to be used as bypass conduit. First of all because there is need for 3 or more separated bypass conduits. Secondly SVG might not be useful as a bypass conduit due to inherent disease like varicosis, where vessels are enlarged and therefore unable to use. Unavailability of conduit material may occur owing to previously harvest for bypass operations in the past [3]. The preferred conduits for CABG are IMA's, which have shown excellent patency over many years (defined as bypass was functional with widely open connection between bypass conduit and coronary artery). In case more coronary bypasses are needed, the harvested SVG can be cut into pieces of desired length. However, it is shown that use of SVG result in lower patency rates compared to IMA's. [4]. The availability of commercial off-the-shelf synthetic grafts with small diameter ($\varnothing$ 1.5-5 mm) may overcome the shortage of bypass conduits. However, these polymer conduits are hardly used clinically due to early graft failure. Their high stiffness creates a mismatch in the mechanical properties of the grafts and the recipient native blood vessels [5]. Stiffness makes it complicated to create a perfect anastomosis between conduit and the coronary artery, which creates unfavorable flow disturbances. For these reasons, synthetic conduits are known to occlude earlier compared to autologous SVG [6]. Furthermore, the synthetic conduits, once implanted, are there to stay because the body is unable to break down the chemical structure of the wall of the implanted artificial blood vessel. This may give rise to an unfavorable chronic host vs graft inflammatory response. Finally, the overall biocompatibility of these polymer conduits proved inferior to SVG.

We are developing a vascular graft made of a bioabsorbable material. After implantation of the vascular graft, the graft will slowly start to absorb, while at the same time, new tissue will be formed that will take over the function of this implanted graft (primary function is the conduct of blood flow in a pressure resistant conduit). We aim that the patient finally ends up having a new, living, autologous vessel to be functional as conduit. Furthermore, the use of this material has the potential to be a bypass conduit without limitations in terms of graft failure (owing to stenosis, occlusion and calcification) beyond that of the presently available autologous veins or commercial products.

Research preceding this proposal. Both in-vitro work and recent acute in-vivo work (also in sheep) were performed before the start of performed other chronic experiments to assess the feasibility, bendability, and suturability of the absorbable grafts. It has been shown that both straight and bendable grafts could be produced, which can be sutured onto the native vessels. Handling, trimming and suturability were assessed and approved by different surgeons using questionnaires. In addition, it was shown that acute patency could be obtained in vascular grafts (diameter [REDACTED]) that served as a bypass of the left and right internal mammary arteries, when anticoagulation was administered to the animals (data not published yet). Other acute in-vivo studies showed that the absorbable grafts can be used to create a full CABG. Here, a bypass was created from the aorta towards the left circumflex artery. Again, the graft stayed patent for the follow-up time [REDACTED]. Chronic in-vivo work in the ovine model, where absorbable grafts (with a diameter of [REDACTED], high flow bypass) were used as an interposition of the carotid artery of sheep have been shown that all grafts remained patent up to [REDACTED] months. No signs of thrombus formation, stenosis, calcification or severe inflammation were found, which indicates that the material is biocompatible in high flow bypass conditions [REDACTED] (data not published yet). In CABG, however, blood flow is in the range of [REDACTED]/min and graft diameter is smaller, with diameter of [REDACTED]. In the current study, we will investigate small diameter (curved) conduits with

comparable length to human implants. Due to the lower flow and the smaller diameter, it is needed to perform new animal studies. As the diameter is smaller, a new layer of tissue with the same thickness as in a larger diameter has a bigger effect on patency. In addition, smaller diameter grafts are more difficult to handle compared to large diameter grafts as there is less space for the surgeon to work around. In general, it has been shown that there is a good balance between tissue formation and material degradation. In both [REDACTED] studies up to [REDACTED] (data not published yet) and [REDACTED] studies up to [REDACTED] (data not published yet) the tissue was formed before the material was degraded. This is an important safety aspect, as the newly formed tissue has to take over the function of the implanted material.

1. Go A.S. *et al.* (2014) Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* **129**(3), e28-e292
2. Nichols M. *et al.* (2013) Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update. *Eur.Heart J.* **34**(39), 3028-3034
3. Bordenave L. *et al.* (2008) Developments towards tissue-engineered, small-diameter arterial substitutes. *Expert.Rev.Med.Devices* **5**(3), 337-347
4. Goldman S. *et al.* (2004) Long-term patency of saphenous vein and left internal mammary artery grafts after coronary artery bypass surgery: results from a Department of Veterans Affairs Cooperative Study. *J.Am.Coll.Cardiol.* **44**(11), 2149-2156
5. Catto V. *et al.* (2014) Vascular Tissue Engineering: Recent advances in small diameter blood vessel regeneration. *ISRN Vascular medicine* **2014**, -1.
6. Pashneh-Tala [Tissue Eng Part B Rev.](#) 2016 Feb 1; 22(1): 68–100.

3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
- If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?

The final goal of the project is to assess whether absorbable grafts can be used as a commercially available off-the-shelf bypass graft. Therefore, these grafts should be fully biocompatible. Consequently, conduits should stay patent and should not show signs of fibrosis or severe calcification, which is a process of early ageing and often observed with time. In addition, patients with these grafts should not be in need of vitamin K dependent anticoagulation therapy. The graft should fit in human anatomy in terms of length, routing and bendability. Furthermore, the conduit should be supple, should not kink and have the same handling features as vein grafts. The conduit must accommodate to the full length of the bypass (e.g. length between aorta anastomosis and connection to coronary target site beyond the proximal coronary occlusion).

Proposed chronic studies

In chronic study 1, an interposition graft will be sutured between the distal left internal mammary artery (LIMA) and the left anterior descending (LAD) artery. The LIMA will be harvested and an anastomosis between the LIMA and the absorbable graft will be made. Thereafter, the graft is anastomosed to the LAD. The LAD, proximal of the graft anastomosis, will be ligated to route blood flow to the distal myocardium exclusively through the bypass. Using this set-up, a short straight graft of a couple of cm is employed, without the need to curve the graft. This protocol will provide insight on the biocompatibility (thrombosis, tissue formation, calcification, inflammation) and functionality (bypass flow) under predominantly diastolic flow in a straight polymer bioabsorbable graft as interposed between arteries. In addition, information on the distal anastomotic geometry (graft connection to LAD, end-to-side anastomosis) will be collected, while data on the proximal end-to-end anastomosis will be collected.

In chronic study 2, a bypass will be created between the aorta and the left circumflex coronary artery that mimics the clinical situation (SVG aorto-coronary bypass = translational step). The left circumflex coronary artery, proximal of the graft anastomosis, will be ligated to route blood flow to the myocardium

exclusively through the bypass. To adapt to local anatomy the graft needs to be bendable to allow a curved route and to be of sufficient length. Using this method, information can be collected on the biocompatibility (thrombosis, tissue formation, calcification, inflammation) and functionality (bypass flow) using long and bended grafts, again under predominantly diastolic flow. In addition, both proximal anastomotic geometry (end-to-side aorta to conduit) and the distal anastomoses will be studied.

The major read-outs of both chronic studies are focussed on functionality and biocompatibility, respectively. Functionality is assessed by: bypass flow, echocardiography (heart viability and wall motion), angiography (run-off of contrast agent, patency of grafts, presence of obstructing thrombus). Biocompatibility is assessed by: macroscopic and microscopic evaluation of the grafts. It provides histologic data on tissue formation and deposition, calcification, inflammation, thrombus formation, and scaffold degradation (absorption rate, dilatation and/or aneurysm of the synthetic scaffold/grafts). To further assess tissue formation and degradation of the grafts over time, the grafts will be explanted after different time points.

In addition, the morbidity and mortality of the animals will be monitored based on health status during the whole study, and blood analysis including standard haematology, haemostasis and clinical chemistry.

3.3 Relevance

What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?

The use of absorbable material in bypass surgery instead of autologous veins or currently commercial available non-absorbable products, will eventually lead to a blood conduit as a new living vessel with no limitations in terms of stenosis beyond that of the presently available alternatives. The strategy will improve life of patients (no wounds in legs, no SVG harvested, and therefore no risk on reduced blood circulation in the leg) and reduce costs in health care, due to the durability of the grafts, resulting in a reduction in additional treatments. In addition, these new absorbable grafts can be readily available off-the-shelf in different sizes and lengths.

3.4 Research strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy).

Polymeric bioabsorbable vascular grafts will be implanted, using both two above described chronic studies, into 60 sheep (n=30 per study) to determine the biocompatibility and functionality. Sheep are chosen as preferred animal model because they closely mimic human anatomy and physiology. Secondly, sheep are commonly used for research on cardiovascular devices, and is an established published model [7, 8]. The animal model allows the implantation of clinical sized bypass conduits using standard surgical procedures. It is presenting a worst-case model due to rapid calcification of the vessels in sheep compared to other models and is accepted by the American Food and Drug Administration for research on cardiovascular products. Favorable results in the sheep model may preclude safety, desired biocompatibility and functionality in humans.

Each study contains 30 animals, with a total of 60 animals together. In each study, n=10 animals at each time point (3, 6, and 12 months) will be killed. Animals will be follow-up up to 12 months, as this will allow to obtain information on the long-term functionality of the implanted grafts. It has been observed that the material is not fully absorbed after 12 months, however, it has also been shown that the functionality of the graft material mostly has been taken over by the tissue after 6 months. 12 months follow-up will provide information on whether the newly formed tissue is remodelled into a fully functional blood vessel. In addition, 12 months will be more than sufficient to observe whether thrombus formation will occur, which is a risk of clotting of the vessels. We have observed that after 6 months (carotid study) the implanted vessels were fully endothelialized, reducing the risk of thrombus formation. The sheep model is a good model for this, as no spontaneous endothelialization is occurring, which can be the case in pigs or dogs. Therefore, the sheep model mimics best what will happen in the human situation.

Animals can die due to graft related or due to non-graft related issues, what is taken into account when determining the number of animals. Motivation for number of animals see Appendix A 'Experimental approach and primary outcome parameters'.

7. Ali et al, Cardiovascular surgery,1996;4(4):543-549
8. Shofti et al, [Lab Anim.](#) 2004 Apr;38(2):149-57.

3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

After implantation and before killing of the animal and during follow-up, transthoracic echography and angiography will be performed. See Appendix A 'Experimental approach and primary outcome parameters' for the details on time points when these procedures will take place. Angiography will be performed to assess the patency of the graft, the flow patterns, the diameter of the graft and the dimensions of anastomotic orifice. Echography will provide information on the function of the heart typically related to the graft perfused territories. Blood samples will be taken at several time points (by puncture of the jugular vein). In addition, a weekly health check will be monitored.

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points.

The same material as used in the preceded research will be used in described chronic studies 1 and 2. It provided insight in technical possibilities and implantation techniques to be used in studies 1 and 2.
Main expected outcome chronic study 1: biocompatibility and functionality focussed on a straight small diameter bioabsorbable conduit and distal coronary anastomosis at different time points in a CABG sheep model (see further Appendix A 'Experimental approach and primary outcome parameters')
Main expected outcome chronic study 2: biocompatibility and functionality focussed on a curved small diameter bioabsorbable conduit and proximal aortic anastomosis at different time points in a CABG sheep model (see further Appendix A 'Experimental approach and primary outcome parameters').

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	Bypass implantation
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Evaluatie van een omleidingsvat gemaakt van een bioafbreekbaar materiaal voor bypass operaties
1.2 Looptijd van het project	2 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Bioafbreekbaar, bypass, hartomleiding, kransslagader

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	☐ Fundamenteel onderzoek
	☒ Translationeel of toegepast onderzoek
	☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	☐ Hoger onderwijs of opleiding
	☐ Forensisch onderzoek
	☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	De doelstelling van het project is het testen van een bioafbreekbaar bloedvat in een relevant diermodel ten behoeve van bypass (of hartomleidings) operaties. Een veelvoorkomende ziekte aan het hart- en vaatstelsel is coronaire hartziekte. Dit is een aandoening waarbij de kransslagader, welke het hart van bloed voorziet, verstopt is. Hierdoor wordt de bloedtoevoer naar het hart belemmerd, wat kan resulteren in ernstige en vaak ook levensbedreigende situaties. Een hartomleidings operatie, waarbij eigen bloedvaten kunnen worden gebruikt als een omleiding van de verstopte kransslagader is dan een mogelijke optie. Veel van deze patienten hebben
---	---

meer dan een enkele verstopping, en hebben daardoor ook meerdere bloedvaten nodig. De voornaamste beperking in patienten die meerdere omleidingen nodig hebben is de beschikbaarheid van gezonde bloedvaten.

Het doel van de voorgestelde studie is om bloedvaten, welke gemaakt zijn van een afbreekbaar polymeer, te testen als alternatief voor de hedendaagse middelen die gebruikt worden tijdens een bypass operatie. Het afbreekbare bloedvat zal langzaam afbreken terwijl er tegelijkertijd nieuw weefsel wordt gevormd dat dit afbreekbare bloedvat vervangt. Na verloop van tijd beschikt de patient over een nieuw gevormd bloedvat met de eigenschappen van natuurlijke bloedvaten, welke minder snel zullen verstopen dan de hedendaagse commerciële beschikbare middelen. Een ander voordeel is dat deze omleidingsvaten vooraf, en in verschillende maten, gemaakt kunnen worden, zodat ze per direct beschikbaar zijn voor elke patient.

De studie richt zich op een volledige omleiding, waarbij geen enkel bloedvat van het schaap zelf gebruikt wordt. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een buigbaar bioafbreekbaar bloedvat. Er wordt een omleiding aangelegd vanaf de aorta naar de kransslagader in het hart, welke het hart van bloed voorziet. Dit geeft inzicht in de verbinding tussen de bloedvaten van het schaap zelf (de aorta en de kransslagader) en de bioafbreekbare vaten. Ook levert het data over de snelheid waarmee het nieuwe bloedvat afbreekt, en hoe en welk soort weefsel er gevormd wordt.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

Tijdens deze studie zal er gekeken worden naar de functionaliteit van deze polymere omleidingsvaten. Deze vaten zullen door het lichaam bekleed worden met lichaamseigen weefsel. Na verloop van tijd is het omleidingsvat omgezet tot een geheel lichaamseigen bloedvat. Dit maakt de kans op afstoting erg klein, en draagt bij aan de duurzaamheid door bijvoorbeeld verminderd risico op complicaties zoals verstoppingen. Verder zullen ook de weefselvorming en de snelheid waarmee het omleidingsvat afbreekt onderzocht worden. Dit zal verder bijdragen aan de ontwikkeling van deze bioafbreekbare bloedvatbeschikbaarheid van omleidingsvaten. Het voordeel van bioafbreekbare vaten ten opzichte van de hedendaags beschikbare vaten is dat de patient zijn eigen vaten kan behouden en daardoor minder wonden zal hebben in het been, daar waar anders een bloedvat geoogst dient te worden. Dit zou tevens kunnen resulteren in risico op complicaties (bijv. slechte circulatie in het been). Ook zullen de kosten voor de gezondheidszorg verminderen vanwege de duurzaamheid van de bloedvaten, de te verwachten minder aantal re-operaties en heropnames wat resulteert in een vermindering van het aantal behandelingen.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

Schapen, Swifter ras, volwassen, aantal=60

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het

Als gevolg van de operatie zullen de dieren pijn aan de wond hebben, echter zal deze onderdrukt worden met behulp van pijnstillers. Daardoor zijn de negatieve gevolgen voor de dieren minimaal.

welzijn van de proefdieren?

Tijdens het verloop van de studie zullen er op verschillende tijdstippen niet-belastende technieken gebruikt worden, waarbij er aangetoond kan worden dat de bloedvaten open zijn. Deze ingreep gebeurt onder een lichte narcose. Om het ongerief zoveel mogelijk te beperken zal deze ingreep maximaal 7 keer uitgevoerd worden. Ook zullen er beelden van het hart gemaakt worden om de functionaliteit van het hart te monitoren.

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

Ernstig

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

De dieren worden onder narcose gedood. Het is noodzakelijk om de dieren te doden omdat we behalve de graft, ook willen bekijken of er negatieve effecten worden gevonden in de organen van de dieren.

4 Drie V's

4.1 **Vervanging**
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

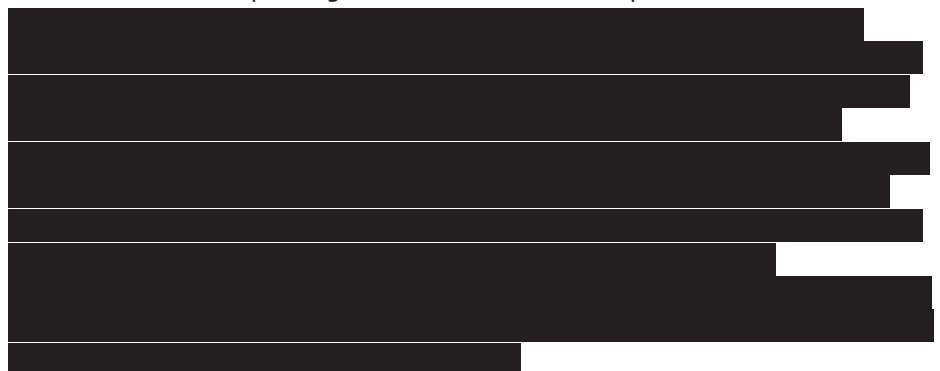
Voor deze studie is het noodzakelijk om dieren te gebruiken, aangezien de functionaliteit van het afbreekbare bloedvat alleen getest kan worden in een omgeving met bloed met daarin allerlei complexe componenten zoals levende cellen welke zowel het weefsel aanmaken als de graft afbreken.

4.2 **Vermindering**
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Voorafgaand aan deze studie zijn er de noodzakelijke testen in het laboratorium uitgevoerd op het afbreekbare bloedvat.

Er is gekeken welk materiaal het beste gebruikt kan worden, hoe snel het afbreekt in het laboratorium, en er is getest met het maken van omleidingen met behulp van dit materiaal op cadavers. Door dit eerst uit te voeren in het laboratorium hebben we veel dieren kunnen besparen en is er nu maar een relatief kleine groep nodig om het materiaal ook in levende dieren te testen.

De technische uitvoerbaarheid van de operatie is getest op zowel kadavers als op dieren onder narcose. Hierbij is er al aangetoond dat het mogelijk is om de bloedvaten op een goede manier te kunnen plaatsen in het dier.



Doordat al deze testen grondig uitgevoerd zijn, hebben we nu niet veel schapen nodig om de onderzoeken uit te voeren met kleine diameter

omleidingsvaten en lage bloedstroom vergelijkbaar met de menselijke bypass operatie. Met deze voorbereidende studies hebben we meer zekerheid dat het voorliggende onderzoek zal slagen.

4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

De keuze voor het schapenmodel is gemaakt omdat dit een veelgebruikt model is voor de evaluatie van veiligheid en functionaliteit van producten die bloedvaten en hartkleppen vervangen. Schapen zijn hier erg geschikt voor omdat de anatomie erg lijkt op die van mensen. Pilot proeven op schapen zijn uitgevoerd om de technische uitvoerbaarheid te bepalen.

Tijdens de studie zullen er op verschillende tijdstippen niet-belastende technieken gebruikt worden, waarbij er aangetoond kan worden dat de bloedvaten open zijn. Deze ingreep gebeurt onder een lichte narcose. Om het ongerief zoveel mogelijk te beperken zal deze ingreep maximaal 7 keer uitgevoerd worden.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

De operatie zal steriel worden uitgevoerd, wat het risico op infecties zal verlagen. Na de operatie zullen de dieren intensief in de gaten worden gehouden, vergelijkbaar met een open-hart operatie bij humane patienten. Pijn- en infectiebestrijding wordt gegeven tijdens de eerste dagen na de operatie. Hierna zijn er geen negatieve gevolgen voor de dieren meer te verwachten. Direct na de operatie zullen de dieren kort alleen gehuisvest worden om ze zo goed mogelijk te kunnen verzorgen. Zodra ze voldoende opgeknapt zijn (binnen enkele dagen) zullen ze weer gehuisvest worden in groepen.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.

1

General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	11500	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	UMC Utrecht	
1.3	List the serial number and type of animal procedure.	Serial number 1	Type of animal procedure Bypass implantation

Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

Preceded research. In-vitro studies and acute in-vivo have been performed to assess the usage of medication to improve the patency of absorbable grafts. It has been shown that the use of anti-coagulation

and anti-thrombus medication prior to surgery improved the outcome (patency). It was shown that grafts did not occlude and showed good flow through the graft (as shown with angiography and flow measurements), within the experimental time of 4 hours, while did they occlude within minutes when no medication was used. Therefore, this medication will also be administered to the animals within this study, starting 4 days prior to surgery to reach optimal dose levels at the time of surgery. Medication is needed until a non-thrombogenic layer has been formed on the lumen of the grafts, which prevent the formation of thrombus, and therefore clotting. These medications are commonly used in the clinic by patients with cardiovascular diseases (so called dual therapy), and are also commonly used in other preclinical studies on CABG prior surgery and during follow-up (Ben-Gal *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2013;8:122). Therefore, also during follow-up, we will administer these anti-coagulation and anti-thrombus medication.

Study 1 involves a bypass, using the native LIMA and connect this to the proximal part of the synthetic bioabsorbable vascular graft. The distal anastomosis will be made on the LAD. In study 2, only a synthetic absorbable vascular graft will be used as full bypass, with the anastomosis created on the ascending aorta and anastomosed to the left circumflex artery. The study will be performed by using a cardiopulmonary bypass (CPB, also known as a heart-lung machine).

After implantation of the vascular grafts, an echography and angiography will be performed to assess whether the graft is functional and good flow is observed through the anastomoses and the graft. During follow-up, non-invasive echography will be performed at several time points. In addition, angiography and blood sampling will be performed on the animals during follow-up, as indicated in table 1. Blood sampling takes 5 minutes and can be performed in the stable, echography will take 15 minutes, while the whole angiography procedure might take up to 45-60 minutes. However, angiography is under general anaesthesia. Furthermore, a weekly health check will be performed where behaviour, weight, temperature, and general health condition will be monitored.

After killing of the animals, the grafts will be removed en bloc with the surrounding native tissue. This will be rinsed free of blood with saline. Macroscopic analysis will be performed (tissue formation, calcification, thrombosis), followed by fixation of the samples in formalin. Microscopic analysis include but are not limited to H&E, Movat Pentachrome, Von Kossa, and Von Willebrand factor stainings. See table 1 for an overview of the complete overview of all analysis.

Table 1 Analysis

Type of analysis	Time point	Results
Angiography	Several time points after surgery with a maximum of n=7	Patency graft, flow patterns within graft, diameter graft and anastomotic orifice
Transthoracic echo	Several time points after surgery with a maximum of n=13	Function of the heart
Direct echo on graft	After implantation and before killing	Blood flow through graft, quality of anastomosis
Health monitoring	Weekly	General health of the animals including weight, activity, appetite, signs of illness/infection/pain
Blood sampling	Several time points with a maximum of n=15, and in case of a complication	Biochemistry parameters and Cells blood count
Coagulation	Several time points after surgery with a maximum of n=10	Coagulation factors
Macroscopic assessment	After killing	Tissue formation, thrombosis, calcification, morphological changes, injury
Microscopic assessment	After killing	Tissue formation, absorption material, calcification

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment.

Provide justifications for the selected approach.

In study 1, all study animals will be anesthetized and intubated. Following induction of anaesthesia and instrumentation, the sheep will be surgically scrubbed and draped. A sternotomy will be performed, followed by harvesting of the LIMA from the left inner part of the sternal bone. Subsequently, cannulas will be placed to allow CPB to be performed. When the animal is on-pump, the LAD will be dissected. The proximal anastomosis of the implanted graft segment will be made on the distal LIMA, and the distal anastomosis on the LAD (see Figure 1). The native LAD will be ligated to allow only blood flow through the implanted vessel. After implantation, the animal will be weaned from CPB, and the cannulas will be removed. Thereafter, a sterile echo probe can be placed on the implanted graft to assess the flow through the graft, and to visualize the anatomy of the created anastomosis. In addition, an angiography will be made and the animal will be closed. After detubation and removal of the chest drains, the awakened animal is transported to the stables for further recovery.

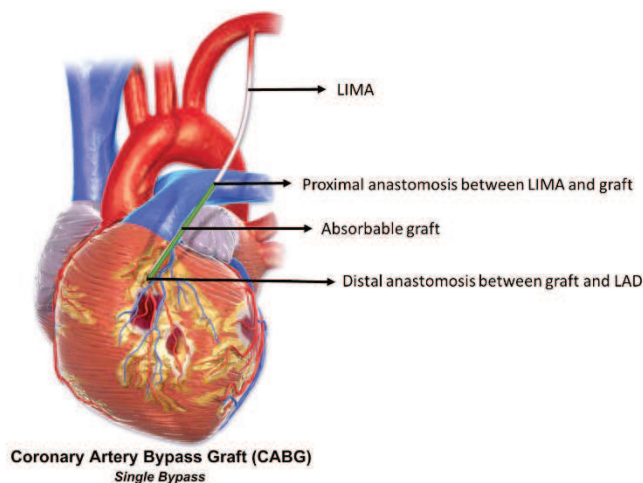


Figure 1 Bypass surgery using a short, straight absorbable graft (in green). The native LIMA is used in addition to create a bypass. The graft is positioned between the LIMA and the LAD.

In study 2, all study animals will be anesthetized and intubated. Following induction of anaesthesia and instrumentation, the sheep will be surgically scrubbed and draped. A left thoracotomy in the fourth intercostal space will be performed, followed by a placement of the cannulas to allow onset CPB. When the animal is on-pump, dissection of the aorta and the circumflex artery will be performed. The proximal anastomosis of the implanted synthetic graft will be made on the ascending aorta, and the distal anastomosis on the left circumflex artery (see Figure 2). The native left circumflex artery will be ligated to allow only blood flow through the implanted vessel. After implantation, the animal will be weaned from CPB, and the cannulas will be removed. Thereafter, a sterile echo probe can be placed on the implanted graft to assess the flow through the graft, and to visualize the anatomy of the created anastomosis. In addition, an angiography will be made and the animal will be closed. After detubation and removal of the chest drains, the awakened animal is transported to the stables for further recovery.

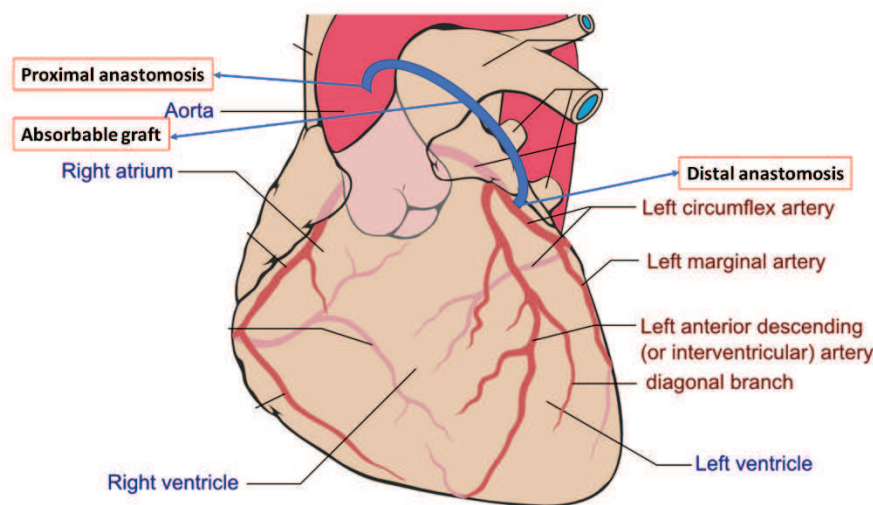


Figure 2 Bypass surgery using a long, bendable graft (in blue), which is located between the aorta and the left circumflex artery. No native vessels are needed to create a full bypass.

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

Motivation of animals included in the study:

Comparable studies in literature have shown to use a similar number of animals per group (n=7 used in Ben-Gal *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2013;8:122, and n=5 used in Hasegawa [ASAIO J.](#) 2005 Nov-Dec;51(6):725-9). The minimum number of animals should be used consistent with obtaining meaningful results (see ISO 10993-2). The results of this observational study will be compared to results that are widely available in literature and in compliance with the guidelines of the US Food and drug Administration.

A power calculation with the following parameters was performed:

- Type 1 error of 5%
- Power of 80%
- Using a qualitative scale (completely occluded or not)
- An average of 70% (40-100%) of the synthetic grafts occlude within 12 months according literature (Pashneh Tala 2016 TE vascular grafts past present and future, *ASAIO Journal* 2005; 51:725–729.)
- Although all of the vascular grafts in the carotid position were patent after 12 months, we assume that 25% of the absorbable grafts will occlude within 12 months when implanted as a CABG, as smaller diameters and longer grafts are used.

Performing the calculation with these parameters results in a minimal amount of 8 animals per group. 20% extra animals will be included, as this is the expected percentage that will reach a human endpoint. Therefore, the total number of animals included per group will be 10. In each study, n=10 animals at each time point (3, 6, and 12 months) will be killed. This will be n=30 animals for study 1 and n=30 animals for study 2, which is n=60 animals in total.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Sheep, Swifter, n=60, adult, both female and male (1 to 2 year-old at start of study). Adult animals will be used as these animals hardly grow during the study. Sheep closely mimic human anatomy and physiology allowing the implantation of clinical sized grafts using standard surgical procedures. In addition, sheep are

widely available and relatively easy to handle.

A known and approved breeder, will be used to obtain sheep for preclinical studies.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

☐ Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

☐ No

☐ Yes> Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

For this study, animals are needed as the in-vivo functionality, tissue formation, and degradation can only be assessed in a living animal and are not otherwise available. The to be implanted biodegradable synthetic vascular grafts were extensively tested (degradation speed, interaction between material and blood) using in-vitro systems. Furthermore, cadaver studies and acute in-vivo studies in sheep were performed to test the optimal size, routing and suturability of the grafts. This allowed us to optimize the vascular grafts before these chronic animal studies will be performed. The ovine model is chosen as this model is commonly used to show functionality and safety of cardiovascular products. The anatomy and physiology mimics that of human.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

The surgery will take place in a sterile surrounding under general anesthesia. Detubation and removal of chest drains is performed on the surgery room. The animal's recovery will take place in the stables in a separated box with regular surveillance of certified personnel. Animals will receive pain killers, antibiotics, and anti-arrhythmia during standard post-op care. Pain will be minimized by the administration of pain killers during the first days after surgery. Fear due to solitaire housing might occur during the first days, however, after the intensive care period, the animals will be housed in groups again as soon as possible. Daily observations will be made during the intensive care period, including wound care, general inspection of vital functions, heart frequency, breath frequency, and general condition. Clinical health will be monitored on a weekly basis after the intensive care period.

Repetition and duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

Not applicable

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☒ No

☐ Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

☒ Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

☐ No > Justify why pain relieving methods will not be used.

☒ Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Painkillers will be administered

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals' welfare may be expected?

Post-operative complications (cardiopulmonal, (myocardial infarction), pain, and hematoma), infection, fever

Explain why these effects may emerge.

- Post-operative bleeding (surgical, coagulation disorder), arrhythmia (owing to pericardiotomy, graft dysfunction, graft occlusion), decreased functionality of the lungs 2-3 days post op (post cardiectomy lung dysfunction, dyspnea), graft dysfunction or graft occlusion (myocardial infarction,

- cardiac arrest) • Pain can result in decreased appetite • Infection of the wound might result in fever and general illness • Weekly during the first month, and monthly after that non-invasive echography will be performed (minimal discomfort)
Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.
Administration of painkillers, diuretics during the first days, antibiotics, anticoagulation (pre op and post op). All treatments will be taken after consultation of the Veterinary staff.
Post op care, solitaire housing during the first post-op time, post op (intensive care) monitoring
J. Humane endpoints
May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?
☐ No > Continue with question K.
☒ Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.
• Animal does not stand up • Severe cardiopulmonary symptoms (continue tachycardia >150), tachypnea, weak arterial pulsations (auscultation, evidence of lung edema), evidence of uncontrollable blood loss • Infection → fever, no response on antibiotics other than standard post op antibiotics • Animal does not eat → loss of weight • Diagnostics → echocardiographic evidence of heart failure, cardiac tamponade, • Animal suffering due to severe complications due to, or not due to the implanted device.
Indicate the likely incidence.
Mild to moderate. We expect the risk of reaching human end points to be 20%.
K. Classification of severity of procedures
Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe').
Severe
End of experiment
L. Method of killing
Will the animals be killed during or after the procedures?
☐ No
☒ Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.
The animals will be killed at the end of the study, as it is needed to explant the graft material. This will allow to perform macroscopic and microscopic analysis of the implanted material, resulting in data on tissue formation and material degradation, which cannot be analysed in-vivo.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

☐ No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

☒ Yes

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2017.II.500.007
2. Titel van het project : Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model
3. Titel van de NTS : Evaluatie van een omleidingsvat gemaakt van een bioafbreekbaar materiaal voor bypass operaties

4. Type aanvraag:

- ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
- ☐ wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht

Telefoonnummer contactpersoon : [REDACTED]

Emailadres contactpersoon [REDACTED]

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ☒ ontvangen door DEC: 04-05-2017
- ☐ aanvraag compleet:
- ☒ in vergadering besproken: 17-05-2017
- ☐ anderszins behandeld:
- ☒ termijnonderbreking(en) van / tot : 24-05-2017/20-06-2017 en 28-06-2017/19-07-2017
- ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
- ☐ aanpassing aanvraag:
- ☒ advies aan CCD: 20-07-2017

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum: nvt
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden:
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 24-05-2017
- Datum antwoord: 20-06-2017
- Gestelde vragen en antwoorden:

- Bijlage 1, B. De dieren: De DEC mist hier de berekening van het benodigde aantal groepen en het totaal aantal dieren. Deze punten komen weliswaar in de projectbeschrijving aan bod, maar dienen ook in de bijlage opgenomen te worden. Graag aanvullen.

Dit is opgenomen in de bijlage.

- Niet Technische Samenvatting: De DEC raadt u aan de NTS fors in te korten en technische beschrijvingen ten behoeve van de leesbaarheid eruit te halen.

Dit is gewijzigd.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 28-06-2017
- Datum antwoord: 19-07-2017
- Gestelde vraag en antwoord:
 - Bijlage 1: Klopt het dat dieren van beide geslachten (afhankelijk van de beschikbaarheid) in gelijke mate zullen worden ingezet? Indien alleen man/vrouw wordt gebruikt dan dient dat aangegeven en gemotiveerd te worden in de bijlage.

Het klopt dat dieren van beide geslachten (afhankelijk van de beschikbaarheid) in gelijke mate zullen worden ingezet. Dit is aangepast in de tekst.
- Het antwoord heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise: nvt
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Advies expert:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is één DEC-lid, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering.

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. Het beschrijft het onderzoek naar de bio compatibiliteit van een nieuw soort implanteerbare kunstbloedvaten gemaakt van biologisch afbreek materiaal ('graft'). Er is een grote behoefte aan kunstbloedvaten welke nodig zijn bij 'bypass' operaties. Bij patiënten die lijden aan atherosclerose zijn de eigen bloedvaten, welke

normaal gesproken bij voorkeur worden gebruikt, vaak onbruikbaar omdat deze te stug zijn geworden. Nadeel van de huidige generatie kunstvaten die uit polymeren bestaan, is dat deze ook erg stug zijn en mechanische problemen opleveren om goede aansluiting te maken tussen de coronair vaten en de graft. Er is nu een nieuwe generatie grafts gemaakt van biologisch afbreekbaar materiaal. Deze grafts worden na implantatie langzaam geabsorbeerd door het lichaam en vervangen door eigen bloedvatweefsel. Daarnaast zouden patiënten die deze graft ontvangen niet langer meer afhankelijk zijn van antistolling behandeling. De experimenten beschreven in deze aanvraag moeten de vraag beantwoorden of deze generatie grafts (dik en dun) ook op langere termijn (meer dan 1 jaar) inderdaad volledig afbreekbaar zijn in-vivo en er geen sprake is van groei van ongewenst weefsel ('fibrose vorming') of calcificatie. Technisch zal worden onderzocht of de kunstvaten voldoende buigzaam zijn zonder te 'knikken' bij het implanteren in de patiënt.

De voorgestelde experimenten zijn naar de mening van de DEC logisch en helder opgeschreven en beargumenteerd, en ze zijn nodig om het beoogde concrete resultaat te bereiken. Alle stappen in het project zijn voldoende uitgewerkt, met duidelijke uitkomstparameters en bevatten geen onzekerheden. Gezien bovenstaande is de DEC van oordeel dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. De aanvraag komt qua structuur overeen met voorbeeld 4B uit de "Handreiking Invulling Definitie Project".

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstellingen.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is om te onderzoeken of deze nieuwe generatie kunstbloedvaten technisch bruikbaar zijn (voldoende buigzaam en goede aansluiting op een bestaand bloedvat) tijdens de operatie en na implantatie volledig worden afgebroken door de patiënt en vervangen door eigen bloedvatweefsel zonder dat daarbij overvloedig weefsel wordt gevormd (fibrose) of met veel kalkafzetting waardoor het vat dicht gaat zitten. Het uiteindelijke doel van het project is aantonen dat deze kunstbloedvaten technisch bruikbaar zijn tijdens de operatie en voor de patiënt meerwaarde hebben ten opzichte van de huidige kunstbloedvaten zijn. De DEC is van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren, het onderzoeksveld en de patiënten welke chirurgisch van een nieuw bloedvat moeten worden voorzien. De morele waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: welzijn (stress) en de rechtvaardigheid (intrinsieke waarde en integriteit). De morele waarden die voor de patiënt worden bevorderd zijn: herstel van bloedvaten/circulatie na bijvoorbeeld een hartinfarct zonder kans op bijkomende complicaties als stenose van het kunstbloedvat. De morele waarden die

voor het onderzoeksveld worden bevorderd zijn: wetenschappelijke ontwikkelingen doordat meer inzicht wordt verkregen in het gebruik van bio compatibiliteit van een nieuw soort implanteerbare kunstbloedvaten.

6. De aanvrager geeft niet aan nadelige effecten op het milieu te verwachten. De DEC ziet geen aanleiding om aan te nemen dat zich toch nadelige effecten zullen voordoen.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De DEC is van mening dat het projectvoorstel aansluit bij recente inzichten en dat het geen belangrijke hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten beperken. De groep geniet grote bekendheid op dit gebied en heeft ervaring met het voorgestelde model. Daarom moet het haalbaar zijn dat de resultaten van dit project op termijn leiden tot het gebruik van biologisch afbreekbare kunstvaten bij o.a. hart en vaatziekten.
8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Recent in vitro onderzoek en een eerste pilot in schapen heeft laten zien dat de geïmplanteerde vaten een goede doorstroom hadden voor ruim 6 maanden zonder fibrose of calcificaties. Dat is de aanleiding voor het huidige beschreven verdere onderzoek naar smallere en gebogen grafts.

Welzijn dieren

9. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
 - ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
 - ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
 - ☐ Zwerfdieren (10h)
 - ☐ Hergebruik (1e lid 2)
 - ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
 - ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
 - ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn.

11. Het cumulatieve ernstige ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. De dieren worden onder anesthesie gebracht waarna een of meerdere coronaire grafts worden geplaatst. Met behulp van angiografie en echografie wordt net als bij de humane patiënt in de tijd de bloeddorstroom gemeten. In bloedmonsters worden biochemische- en stollings- parameters bepaald. Aan het einde van het experiment wordt post-mortem de staat van de grafts histologisch verder onderzocht. Het is logisch dat verder histopathologisch onderzoek naar de grafts alleen kan worden uitgevoerd indien het dier wordt gedood.
12. De integriteit van de dieren wordt fysiek en mogelijk gedragsmatig aangetast (minder eetlust). Door de operatie hebben de dieren tijdelijk last van pijn door de sternotomie. Tijdelijk kan ten gevolge van de operatie de longfunctionaliteit zijn afgenomen. Indien de grafts (onverwacht) niet goed zouden functioneren zou een myocardinfarct kunnen optreden.
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Het betreft een zware operatie die wordt uitgevoerd in de openborst holte met reële kans op cardiopulmonale complicaties gedurende of kort na de operatie. Ook indien tijdens metingen afwijkingen worden geconstateerd zoals hartfalen is dit reden voor een humaan eindpunt. De proeven worden uitgevoerd door zeer ervaren medewerkers en er is een dierenarts in huis voor overleg en/of behandeling bij complicaties.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Om de in-vivo functionaliteit voor toepassing in de mens te kunnen onderzoeken is het noodzakelijk dat afbraak van de graft en nieuwe weefselvorming in een anatomisch vergelijkbaar dier wordt vastgesteld zonder schadelijke bijwerkingen als fibrose of overmatige kalkafzetting.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Er is al veel vooronderzoek uitgevoerd met in-vitro methoden. Het betreft hier een beschrijvende studie waarvoor bruikbare data moeten worden verzameld die zullen voldoen aan de FDA richtlijnen.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. De operaties worden door zeer deskundige cardiovasculair chirurgen uitgevoerd en begeleidt door een dierenarts. De perioperatieve zorg is gelijk aan de zorg welke aan humane patiënten wordt gegeven. Er is gekozen voor het schaap omdat het een representatief model is voor research op cardiovasculair gebied vanwege de anatomische en fysiologische gelijkenissen met de mens.

17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Dieren van beide geslachten (afhankelijk van de beschikbaarheid) zullen in gelijke mate worden ingezet.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood. Histopathologisch onderzoek van de geïmplanteerde vaten is een belangrijk onderdeel om de buikbaarheid vast te stellen. Explantatie van de graft is theoretisch mogelijk, maar dan is herstel van de bloedsomloop opnieuw nodig. Dat brengt opnieuw ernstig ongerief met zich mee. Het is dus logisch dat het dier wordt gedood om de grafts uit te kunnen nemen. De dieren worden volgens een, bijlage IV van de EU richtlijn, passende methode gedood.
20. Hergebruik is niet overwogen omdat het voor het project relevant is histopathologisch onderzoek toe doen, zie C19, en het daarvoor nodig is de dieren te doden.

NTS

21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van dit onderzoek, namelijk vaststellen dat buigzame, biologisch afbreekbare kunstbloedvaten beter zijn als vervangend bloedvat bij cardiovasculaire aandoeningen dan de huidige kunstbloedvaten, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de gebruikte proefdieren kan rechtvaardigen.
2. Er vindt een aanzienlijke aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met ernstig ongerief.
- Indien de hierboven genoemde doelstellingen behaald worden, dan zal dit project er toe bijdragen dat patiënten met cardiovasculaire aandoeningen, welke een chirurgisch ingrijpen nodig hebben om de bloedsomloop te herstellen, beter geholpen kunnen worden. De chirurg kan het buigzame materiaal beter inhechten en de kans op aangroei van littekenweefsel (fibrose) of kalk is minder dan bij de huidige bloedvaten, omdat deze graft door het lichaam wordt vervangen door een lichaamseigen nieuw bloedvat. Het is aannemelijk dat de translationele doelstelling behaald zal worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken. Dat het voor de individuele onderzoeker van belang kan zijn om aansprekende onderzoeksresultaten te boeken is juist, maar in de uiteindelijke afweging kent de DEC daar weinig gewicht aan toe.

3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat de evaluatie van nieuwe bloedvaten van biologisch afbreekbaar materiaal een substantieel belang vertegenwoordigt omdat de huidige generatie kunstbloedvaten nog veel nadelen hebben en dat dit belang opweegt tegen de aanzienlijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht /Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD1150020172744

Bijlagen

2

Datum 27 juli 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 26 juli 2017. Het gaat om uw project "Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD1150020172744. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

27 juli 2017

Aanvraagnummer:

AVD1150020172744

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
27 juli 2017
Aanvraagnummer:
AVD1150020172744

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11500
Naam instelling of organisatie: UMC Utrecht /Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 30244197
Postbus: 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
IBAN: NL27INGB0000425267
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Universiteit Utrecht

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]

Functie: Associate Professor

Afdeling: [REDACTED]

Telefoonnummer: [REDACTED]

E-mailadres: [REDACTED]

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

- ☒ Nieuwe aanvraag
☐ Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Datum:

27 juli 2017

Aanvraagnummer:

DEC150020172744

Over uw project

Geplande startdatum:

1 september 2017

Geplande einddatum:

1 september 2022

Titel project:

Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model

Titel niet-technische samenvatting:

Evaluatie van een bioafbreekbare graft voor bypass operaties

Naam DEC:

DEC Utrecht

Postadres DEC:

Postbus 85500 3508 GA Utrecht

E-mailadres DEC:

[REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1035,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- ☒ Projectvoorstel
☒ Beschrijving Dierproeven
☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- ☒ DEC-advies

Ondertekening

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

Utrecht

Datum:

25 juli 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC
Postbus 80.011
3508 TA UTRECHT


**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD1150020172744
Bijlagen
2

Datum 27 juli 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 27 juli 2017
Vervaldatum: 26 augustus 2017
Factuurnummer: 172744
Ordernummer: o.v.v. CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD1150020172744	€ 1035,-

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

Van: [REDACTED]
Verzonden: donderdag 14 september 2017 13:12
Aan: info@zbo-ccd.nl
Onderwerp: Antw.: • AVD1150020172744: aanvullende informatie •
Bijlagen: 2017-II-500-007 Appendix to proposal_CABG final 14092017.docx; Niet technische samenvatting_CABG final 14092017.docx

Categorieën: Dossier: [REDACTED]

Beste,

Zie hieronder de aangevraagde aanvullende informatie betreffende AVD1150020172744. In de bijlage zijn de aangepaste documenten te vinden waarin deze informatie is verwerkt.

Vraag 1

Er is sprake van de volgende categorie bijzondere handelingen: huisvesting anders dan bijlage III van de richtlijn. Dieren worden na de operatie, gedurende de intensive care periode, individueel gehuisvest. Daarna worden de dieren weer in de groep geplaatst. In de bijlage dierproeven wordt onder 'F' echter aangegeven dat de dieren volgens bijlage III gehuisvest worden. U wordt verzocht de bijlage dierproeven aan te passen en de individuele huisvesting te onderbouwen.

Antwoord op vraag 1

Uw commissie heeft terecht opgemerkt dat de dieren volgens bijlage III gehuisvest worden. Inderdaad verblijft het geopereerde dier ten minste een nacht apart gehuisvest zonder directe fysieke verstoring van de andere dieren in de stal en het dier is onder regelmatig toezicht van de diervverzorgers. Echter de huisvesting is zodanig georganiseerd dat de langer geleden geopereerde en de nog niet geopereerde dieren in dezelfde grote stal ruimte staan, echter het zojuist geopereerde dier is slechts gesepareerd d.m.v. een open hek met spijlen in de hoek van de stal. Sommige groepen staan gescheiden met een hek in dezelfde stal. Vandaar dat we naar ons inzicht de dieren huisvesten volgens bijlage III, inclusief het zojuist geopereerde dier. In de meeste gevallen staat het zojuist geopereerde dier de volgende dag op de benen, eet hooi, produceert urine en mest. Indien alle controles kloppen gaat het dier weer tussen de andere dieren vertoeven. In sommige gevallen is het nodig het dier nog even de rust te gunnen. We hebben de bijlage III aangepast met bovenstaande tekst.

Vraag 2

Op het aanvraagformulier wordt aangegeven dat de vergunning wordt aangevraagd voor 5 jaar. In de NTS staat echter dat de looptijd van de vergunning 2 jaar bedraagt. U wordt verzocht aan te geven wat correct is.

Antwoord op vraag 2

De looptijd van het project is inderdaad vijf jaar. De NTS is aangepast (2 jaar naar 5 jaar)

Ik hoop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd.

Met vriendelijke groeten,

[REDACTED]

--

[REDACTED]

This message and any attachments are solely for the intended recipient and may contain confidential or privileged information. If you are not the intended recipient, any disclosure, copying, use, or distribution of the information included in this message and any attachments is prohibited. If you have received this communication in error, please notify us by reply e-mail and immediately and permanently delete this message and any attachments. Thank you.



Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.

1

General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	11500	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	UMC Utrecht	
1.3	List the serial number and type of animal procedure.	Serial number 1	Type of animal procedure Bypass implantation

Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

Preceded research. In-vitro studies and acute in-vivo have been performed to assess the usage of medication to improve the patency of absorbable grafts. It has been shown that the use of anti-coagulation

and anti-thrombus medication prior to surgery improved the outcome (patency). It was shown that grafts did not occlude and showed good flow through the graft (as shown with angiography and flow measurements), within the experimental time of 4 hours, while did they occlude within minutes when no medication was used. Therefore, this medication will also be administered to the animals within this study, starting 4 days prior to surgery to reach optimal dose levels at the time of surgery. Medication is needed until a non-thrombogenic layer has been formed on the lumen of the grafts, which prevent the formation of thrombus, and therefore clotting. These medications are commonly used in the clinic by patients with cardiovascular diseases (so called dual therapy), and are also commonly used in other preclinical studies on CABG prior surgery and during follow-up (Ben-Gal *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2013⁸:122). Therefore, also during follow-up, we will administer these anti-coagulation and anti-thrombus medication.

Study 1 involves a bypass, using the native LIMA and connect this to the proximal part of the synthetic bioabsorbable vascular graft. The distal anastomosis will be made on the LAD. In study 2, only a synthetic absorbable vascular graft will be used as full bypass, with the anastomosis created on the ascending aorta and anastomosed to the left circumflex artery. The study will be performed by using a cardiopulmonary bypass (CPB, also known as a heart-lung machine).

After implantation of the vascular grafts, an echography and angiography will be performed to assess whether the graft is functional and good flow is observed through the anastomoses and the graft. During follow-up, non-invasive echography will be performed at several time points. In addition, angiography and blood sampling will be performed on the animals during follow-up, as indicated in table 1. Blood sampling takes 5 minutes and can be performed in the stable, echography will take 15 minutes, while the whole angiography procedure might take up to 45-60 minutes. However, angiography is under general anaesthesia. Furthermore, a weekly health check will be performed where behaviour, weight, temperature, and general health condition will be monitored.

After killing of the animals, the grafts will be removed en bloc with the surrounding native tissue. This will be rinsed free of blood with saline. Macroscopic analysis will be performed (tissue formation, calcification, thrombosis), followed by fixation of the samples in formalin. Microscopic analysis include but are not limited to H&E, Movat Pentachrome, Von Kossa, and Von Willebrand factor stainings. See table 1 for an overview of the complete overview of all analysis.

Table 1 Analysis

Type of analysis	Time point	Results
Angiography	Several time points after surgery with a maximum of n=7	Patency graft, flow patterns within graft, diameter graft and anastomotic orifice
Transthoracic echo	Several time points after surgery with a maximum of n=13	Function of the heart
Direct echo on graft	After implantation and before killing	Blood flow through graft, quality of anastomosis
Health monitoring	Weekly	General health of the animals including weight, activity, appetite, signs of illness/infection/pain
Blood sampling	Several time points with a maximum of n=15, and in case of a complication	Biochemistry parameters and Cells blood count
Coagulation	Several time points after surgery with a maximum of n=10	Coagulation factors
Macroscopic assessment	After killing	Tissue formation, thrombosis, calcification, morphological changes, injury
Microscopic assessment	After killing	Tissue formation, absorption material, calcification

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment.

Provide justifications for the selected approach.

In study 1, all study animals will be anesthetized and intubated. Following induction of anaesthesia and instrumentation, the sheep will be surgically scrubbed and draped. A sternotomy will be performed, followed by harvesting of the LIMA from the left inner part of the sterna bone. Subsequently, cannulas will be placed to allow CPB to be performed. When the animal is on-pump, the LAD will be dissected. The proximal anastomosis of the implanted graft segment will be made on the distal LIMA, and the distal anastomosis on the LAD (see Figure 1). The native LAD will be ligated to allow only blood flow through the implanted vessel. After implantation, the animal will be weaned from CPB, and the cannulas will be removed. Thereafter, a sterile echo probe can be placed on the implanted graft to assess the flow through the graft, and to visualize the anatomy of the created anastomosis. In addition, an angiography will be made and the animal will be closed. After detubation and removal of the chest drains, the awakened animal is transported to the stables for further recovery.

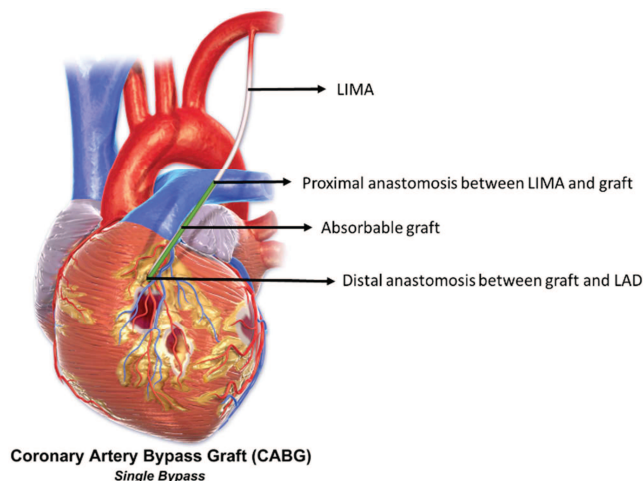


Figure 1 Bypass surgery using a short, straight absorbable graft (in green). The native LIMA is used in addition to create a bypass. The graft is positioned between the LIMA and the LAD.

In study 2, all study animals will be anesthetized and intubated. Following induction of anaesthesia and instrumentation, the sheep will be surgically scrubbed and draped. A left thoracotomy in the fourth intercostal space will be performed, followed by a placement of the cannulas to allow onset CPB. When the animal is on-pump, dissection of the aorta and the circumflex artery will be performed. The proximal anastomosis of the implanted synthetic graft will be made on the ascending aorta, and the distal anastomosis on the left circumflex artery (see Figure 2). The native left circumflex artery will be ligated to allow only blood flow through the implanted vessel. After implantation, the animal will be weaned from CPB, and the cannulas will be removed. Thereafter, a sterile echo probe can be placed on the implanted graft to assess the flow through the graft, and to visualize the anatomy of the created anastomosis. In addition, an angiography will be made and the animal will be closed. After detubation and removal of the chest drains, the awakened animal is transported to the stables for further recovery.

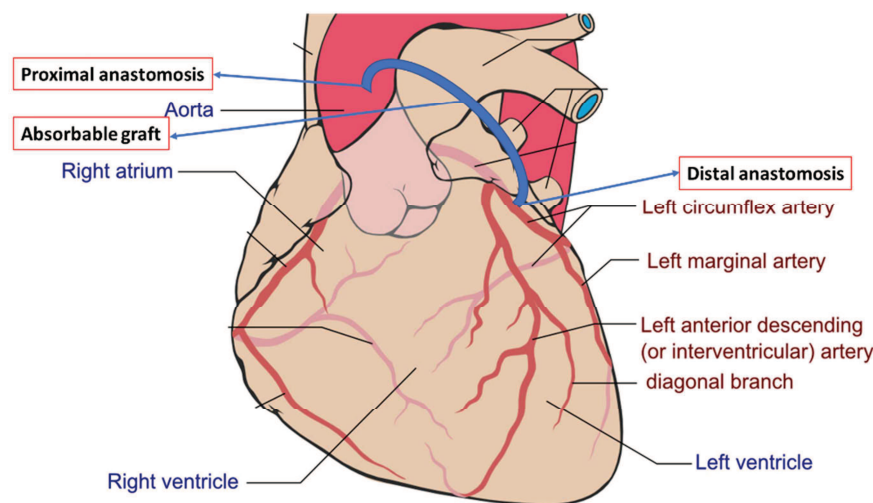


Figure 2 Bypass surgery using a long, bendable graft (in blue), which is located between the aorta and the left circumflex artery. No native vessels are needed to create a full bypass.

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

Motivation of animals included in the study:

Comparable studies in literature have shown to use a similar number of animals per group (n=7 used in Ben-Gal *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2013;8:122, and n=5 used in Hasegawa [ASAIO J.](#) 2005 Nov-Dec;51(6):725-9). The minimum number of animals should be used consistent with obtaining meaningful results (see ISO 10993-2). The results of this observational study will be compared to results that are widely available in literature and in compliance with the guidelines of the US Food and drug Administration.

A power calculation with the following parameters was performed:

- Type 1 error of 5%
- Power of 80%
- Using a qualitative scale (completely occluded or not)
- An average of 70% (40-100%) of the synthetic grafts occlude within 12 months according literature (Pashneh Tala 2016 TE vascular grafts past present and future, *ASAIO Journal* 2005; 51:725–729.)
- Although all of the vascular grafts in the carotid position were patent after 12 months, we assume that 25% of the absorbable grafts will occlude within 12 months when implanted as a CABG, as smaller diameters and longer grafts are used.

Performing the calculation with these parameters results in a minimal amount of 8 animals per group. 20% extra animals will be included, as this is the expected percentage that will reach a human endpoint. Therefore, the total number of animals included per group will be 10. In each study, n=10 animals at each time point (3, 6, and 12 months) will be killed. This will be n=30 animals for study 1 and n=30 animals for study 2, which is n=60 animals in total.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Sheep, Swifter, n=60, adult, both female and male (1 to 2 year-old at start of study). Adult animals will be used as these animals hardly grow during the study. Sheep closely mimic human anatomy and physiology allowing the implantation of clinical sized grafts using standard surgical procedures. In addition, sheep are

widely available and relatively easy to handle.

A known and approved breeder, will be used to obtain sheep for preclinical studies.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

☐ Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

☐ No

☐ Yes> Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

For this study, animals are needed as the in-vivo functionality, tissue formation, and degradation can only be assessed in a living animal and are not otherwise available. The to be implanted biodegradable synthetic vascular grafts were extensively tested (degradation speed, interaction between material and blood) using in-vitro systems. Furthermore, cadaver studies and acute in-vivo studies in sheep were performed to test the optimal size, routing and suturability of the grafts. This allowed us to optimize the vascular grafts before these chronic animal studies will be performed. The ovine model is chosen as this model is commonly used to show functionality and safety of cardiovascular products. The anatomy and physiology mimics that of human.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

The surgery will take place in a sterile surrounding under general anesthesia. Detubation and removal of chest drains is performed on the surgery room. The animal's recovery will take place in the stables in a separated box with regular surveillance of certified personnel. Animals will receive pain killers, antibiotics, and anti-arrhythmia during standard post-op care. Pain will be minimized by the administration of pain killers during the first days after surgery. Fear due to solitary housing might occur during the first days, however, after the intensive care period, the animals will be housed in groups again as soon as possible. Daily observations will be made during the intensive care period, including wound care, general inspection of vital functions, heart frequency, breath frequency, and general condition. Clinical health will be monitored on a weekly basis after the intensive care period.

Repetition and duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

Not applicable

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☐ No

☒ Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

The animals that underwent surgery are housed individually for 1 night, without direct physical disturbance of the other animals in the stable, and will be regularly monitored by the technicians. However, housing is arranged in such a way that animals that underwent surgery a longer time ago and the animal that underwent surgery recently, are in the same stable, just separated by an open fence with bars. Some animals are also grouped in the same stable, also separated by an open fence with bars from other animals. This is why, in our opinion, the animals are housed according Annex III, including the animal that underwent surgery most recently. In most of the cases, the animal that underwent surgery is standing the next day, and is eating and produces fertilizer. When all checks are ok, the animal is grouped again. In some cases, the animal is allowed to take some more rest before it is grouped again.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

☒ Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

☐ No > Justify why pain relieving methods will not be used.

☒ Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Painkillers will be administered

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals' welfare may be expected?

Post-operative complications (cardiopulmonal, (myocardial infarction), pain, and hematoma), infection, fever

Explain why these effects may emerge.

- Post-operative bleeding (surgical, coagulation disorder), arrhythmia (owing to pericardiotomy, graft dysfunction, graft occlusion), decreased functionality of the lungs 2-3 days post op (post cardiotomy lung dysfunction, dyspnea), graft dysfunction or graft occlusion (myocardial infarction, cardiac arrest)
- Pain can result in decreased appetite
- Infection of the wound might result in fever and general illness
- Weekly during the first month, and monthly after that non-invasive echography will be performed (minimal discomfort)

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

Administration of painkillers, diuretics during the first days, antibiotics, anticoagulation (pre op and post op). All treatments will be taken after consultation of the Veterinary staff.

Post op care, solitaire housing during the first post-op time, post op (intensive care) monitoring

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

☐ No > Continue with question K.

☒ Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

- Animal does not stand up
- Severe cardiopulmonal symptoms (continue tachydardia >150), tachypneu, weak arterial pulsations (auscultation, evidence of lung edema), evidence of uncontrollable blood loss
- Infection → fever, no response on antibiotics other than standard post op antibiotics
- Animal does not eat → loose of weight
- Diagnostics → echocardiographic evicence of heart failure, cardiac tamponade,
- Animal suffering due to severe complications due to, or not due to the implanted device.

Indicate the likely incidence.

Mild to moderate. We expect the risk of reaching human end points to be 20%.

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe').

Severe

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No

☒ Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

The animals will be killed at the end of the study, as it is needed to explant the graft material. This will allow to perform macroscopic and microscopic analysis of the implanted material, resulting in data on tissue formation and material degradation, which cannot be analysed in-vivo.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

☐ No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

☒ Yes



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht /Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD1150020172744
Bijlagen
1

Datum 19 september 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 26 juli 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model" met aanvraagnummer AVD1150020172744. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 14 september 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op 23 augustus 2017 hebben wij een u een vraag gesteld over de huisvesting en verzorging van de dieren en de looptijd van de aanvraag. Met uw antwoord heeft u een aangepaste bijlage beschrijving dierproeven en een aangepaste NTS meegestuurd. Wij kunnen ons vinden in uw antwoord.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model" starten. De vergunning wordt afgegeven van 19 september 2017 tot en met 1 september 2022.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 20 juli 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

19 september 2017

Aanvraagnummer:

AVD1150020172744

Centrale Commissie Dierproeven

Datum:

19 september 2017

Aanvraagnummer:

AVD1150020172744


M. G. de Peuter

Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning

Hiervan deel uitmakend:

- DEC-advies

- Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: UMC Utrecht /Instantie voor Dierenwelzijn
Utrecht

Adres: Postbus 12007

Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT

Deelnemersnummer: 11500

deze projectvergunning voor het tijdvak 19 september 2017 tot en met 1 september 2022, voor het project "Evaluation of an absorbable bypass graft in a chronic ovine model" met aanvraagnummer AVD1150020172744, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Associate Professor.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 26 juli 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 14 september 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 14 september 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 20 juli 2017, ontvangen op 26 juli 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 14 september 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1. Bypass implantation				
	Schapen (Ovis aries) /	60	100% Ernstig	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

In dit project worden dierproeven toegepast die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk september 2023 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren.

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

Aanvraagnummer:
AVD1150020172744

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:
AVD1150020172744

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn

Aanvraagnummer:
AVD1150020172744

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.